

應用在腦科學的光學顯微技術 發展

Optical Microscopy for Brain Science

朱士維

Shi-Wei Chu

理解腦的運作是本世紀人類科學重要的疆界之一，其中最關鍵的困難點在於無法觀察到腦中的「軟體」，也就是腦中所有的神經元連結所造成的突現性質 (emergent property) 或資訊流。我們提出的做法是發展光學影像技術，擷取活體全腦中每個神經乃至突觸之間的信號流動，以反推軟體運作。在這篇文章中，我介紹三項我們最近發展的相關技術突破，包括成功實現在果蠅腦中的高速體積雙光子影像系統，可以用毫秒級時間解析度觀察神經之間的動態連結。進一步結合精準光學刺激與光遺傳技術，實現高速體積全光學生理操控與觀察；還有結合共軛焦技術、組織澄清、以及局域化定位超解析技術在全果蠅腦中可達 20 奈米超高空間解析度等。這些創新技術不僅讓我們有機會觀察完整活體小動物腦的反應，未來也有機會應用在其他不同的生物醫學研究領域上。

To understand how brain functions is the grand scientific challenge of 21st century. Brain is composed of millions of neurons, whose interconnection, i.e. connectome, determines its function. Although the interaction of neurons in vitro has been well studied in the past century, the major bottleneck is that no existing tool can capture whole-brain in vivo emergent properties at single neuron or even synapse resolution. To understand functional connectome, an imaging system that can cover a whole living brain with spatial resolution of micrometers (neuron) to nanometers (synapse) as well as temporal resolution in sub-seconds (calcium) to milliseconds (action potential) is highly desirable. In this review article, I introduce our recent efforts to improve optical microscopy in terms of speed and resolution, toward the goal of understanding the brain of *Drosophila*, which offers a small brain with sophisticated functions and genetic control capabilities. By pushing the limits of optical microscopy, these novel techniques will benefit not only brain science, but also studies in other biomedical researches.

一、前言

21 世紀最重要的科學挑戰之一就是了解腦的運作，在 2005 年科學雜誌 125 週年的紀念特刊中，編輯群訪問了世界上的頂尖科學家，歸納出 125 個重大的科學議題。其中名列前茅的包括「人類的意識是什麼」，還有「記憶是如何儲存跟讀取」等跟腦科學有關的議題⁽¹⁾，

這可以說是了解人之所以為人的關鍵科學問題。但是即使經過了十幾年的研究，這些問題仍然待解。事實上，早在一個世紀以前的 Golgi 跟 Cajal，從解剖學的方法揭開腦中是由成千上萬神經元所構成的複雜連結體以降，人類想要理解腦功能的努力就沒有停息過。在 2018 年透過 Janelia Farm 跟 Google 的合作，發表了用電子顯微鏡的奈米解析度完整的呈現出整個果蠅腦的神經結構⁽²⁾，可說是科學上的一大突破。不過其主要困難之一在於就算只是解析這麼小的腦，也花了好幾個月的時間才完成，如果要研究鼠腦甚至於人腦，會需要花上非常驚人的時間。更重要的困難在於就算花了這麼大的力氣找出腦的神經結構，解剖學只能觀察到腦的「硬體」連結，而無法觀察到其中的「軟體」運作。就像如果我們想要了解一台電腦的運作，即使把所有的硬體通通拆開，如果看不到軟體，或是其中的資訊流動，也還是無法看懂其中的奧妙。根據教育部的教育百科，軟體是「使電腦系統能順利運作和正確提供使用者所需訊息的一些程式集的統稱」。若把這段話中的電腦換成大腦，亦即「軟體是使大腦系統能順利運作…」，這就是我們希望找到並理解的目標。而想要看到腦中軟體資訊，一定得要觀察活著的腦才行。從功能性的角度來說，人類對於活體個別神經元如何接收與發送訊號，其實也已經研究了一個世紀以上，可以說掌握得相當透徹。但是要了解腦不能只侷限在腦的一小部分或其中幾個神經元之間的資訊流動，而必須要能夠觀察整個腦中所有的神經元所造成的突現性質 (emergent property)⁽³⁾。也就是說，如果想要了解腦的意識或是記憶謎團，必須要能夠觀察活體動物腦中所有神經元之間的資訊流動。

以人類的腦來說，直徑大約是十公分等級，裡面約有 10^{11} ，也就是一千億個神經元；常見的模式動物老鼠，腦的直徑大約在一公分左右，包括約 10^8 ，也就是一億個神經元；就算是果蠅這麼小的動物，腦的直徑只有不到零點一公分，裡面也有超過十萬個神經元。因此要發展創新的工具，來觀察整個腦中這麼大量神經元的交流活動非常困難，這可說是目前研究腦科學最大的挑戰之一。

雖然目前無法直接觀察到大腦內部的軟體與資訊流動，一個可能的間接途徑是透過適當的工具來觀察腦中的功能性反應，以回推資訊流。眾所皆知，神經中是以調控離子濃度造成的電位變化來傳送信號，所以傳統上要觀察腦中的神經反應最經典的方法就是腦電圖。腦電圖是透過顱外電極來量測腦中神經元的集體電位信號反應，是一種非侵入式的量測方式，可以觀察到整個人腦的電位反應分佈，具有很高的時間解析度。但是其空間解析度非常低，完全無法看到個別神經元的反應。如果想要看到腦中更細緻的電信號變化，另一個可能的做法是將微電極插入腦中，直接量測小區域甚至個別神經元的電位變化，這就是所謂的電生理量測。這個方法的優點是空間與時間解析度都很高，但是其缺點在於侵入性的做法，一方面為了避免影響腦的功能，插入腦中的電極數量不能太多，所以無法研究腦中每個神經元彼此的交互作用。另一方面是在沒有搭配影像觀測的情形下，要精準地將電極置入特定想要觀察的神經元中其實非常困難。

如果想要以非侵入式的方法觀察整個人腦的三度空間影像，最直接會想到的應該是醫院中的成像設備，例如核磁共振掃描、正子放射斷層掃描、電腦斷層掃描、或是超音波影像等。雖然這些技術的穿透能力非常好，可以看到人體內部的結構，但是以目前的技術水平而言，這些技術都還無法達到足夠的時間與空間解析度，來觀察腦中個別神經的動態行為。更重要的是，它們的影像對比來源並不是神經元的電位或離子流動，例如所謂功能性核磁共振其實在觀察血流中的帶氧量，所以無法直接提供神經連結體上收發資訊的動態反應。

若要提高影像技術的解析度，選項有曾經獲得諾貝爾獎的掃描探針顯微鏡以及電子顯微

鏡等，它們可以達到奈米級甚至原子級的空間解析度。就如第一段提到，2018 年有果蠅全腦的電子顯微鏡神經連結發表在頂尖期刊 *Cell* 上⁽²⁾，達到至少可觀察突觸等級的三度空間解析度。不過這些技術的主要限制之一是只能觀察樣本表面的影像，若要用在腦組織上，必須將腦切成很多薄片來觀察，是極高侵入性的做法。不僅在樣本準備上如何維持微細的神經結構不被切片影響是很大的挑戰，而且在取像上也非常花時間。除了切片的問題之外，電子顯微鏡還額外需要真空環境下操作，因此這些高解析的技術目前無法觀察活體動物腦中的功能性連結。

光學顯微影像技術則提供了一種不同的選擇，跟電生理技術相較，光學技術的時間解析度與訊雜比可能較差，但是後者一次可以看到腦中至少數以百計的神經元，有機會可以研究突現效應。跟醫學影像技術，包括腦電圖相較之下，光學技術的穿透深度遠為不足，不過光學顯微鏡可以達到至少微米等級的次細胞空間解析度。跟電子顯微鏡相較，雖然光學技術的解析度不夠好（其實最尖端的光學超解析技術已經可以做到 1 奈米的解析度！⁽⁴⁾），但是光學提供了釐米等級的穿透深度，且不需組織切片。例如在 2019 年，台灣的研究團隊發表了用光學超解析顯微鏡觀察一整個果蠅腦中的神經連結⁽⁵⁾，雖然解析度約為 50 奈米，略遜於電子顯微鏡，但是在一天之內就可以完成一個果蠅腦的影像。而且因為可以不用切片就可以直接觀察整個腦，所以能夠不影響到原本的神經連結結構。更重要的是光學顯微鏡提供了活體組織觀測的可能性，搭配適當的染色或螢光蛋白對比，可以看到小動物腦中神經元之間的信號流動。

綜上所述，在考慮觀察腦的影像技術時，至少需要思考對比來源、空間解析度、時間解析度、穿透深度這四個基本面向，再加上需要在活體觀察的基本要求，以達到解析腦中所有神經元的資訊流動，進而有機會理解腦中「軟體」的運作。光學顯微技術在對比上可以結合近年發展的光遺傳學螢光蛋白，直接觀察到活體組織中的電信號或離子濃度改變；在空間解析度方面則毫無疑問的至少具有個別神經元細胞解析度，若加上 2014 諾貝爾獎得主們所發展的超解析技術，更能夠看到神經突觸甚至個別分子的能力；以時間解析度來說，要看到電信號的傳遞需要毫秒等級，較慢的鈣離子變化則在約百毫秒等級，這在光學二維影像上要達到並不困難，但是如果觀察全腦三維神經反應，速度就是一個蠻大的挑戰；而在影像深度上，光在組織中本來就具有一定的穿透能力（可以試試拿手機的 LED 燈照自己的手指頭，就會發現紅光可以穿過去），不過若要維持光學的高解析度，則能達到的深度一般來說僅有百微米左右。在九零年代的光學顯微鏡重要發明之一就是紅外光雷射加上雙光子激發螢光⁽⁶⁾，目前在除去腦殼的鼠腦中能夠做到約一毫米左右的穿透深度，若要進一步提升，也是一大挑戰。不過若是以小動物腦為研究標的，那麼整體來說，光學顯微技術應該仍然是最佳的觀測工具。

我們實驗室近年來發展了一系列的創新光學影像工具，以果蠅腦為主要的應用方向。之所以選擇果蠅有幾個原因，一是其體積較小，適合光學顯微影像觀測；二是果蠅的遺傳基因工具建立的相當完整，能夠將螢光或光敏蛋白放到腦中的特定神經；三是台灣有世界上最完整的果蠅大腦神經傳遞圖譜 (FlyCircuit, <http://www.flycircuit.tw/>)，這個結構性資料庫可以做為了解功能性信號流動影像的最佳基底。在以下的文章中，與大家簡短分享一些我們最近的研究成果，包括提升高速體積雙光子成像的時間解析度、結合光遺傳學實現全光學生理量測分析腦神經迴路編碼、以及在果蠅全腦中獲得 20 奈米的空間解析度等。

二、具有毫秒時間解析度的高速體積雙光子影像系統

傳統的光學顯微影像是透過物鏡將光聚焦，以高解析度觀察焦平面上的細胞結構，亦即是以二維的平面觀察為主。但是神經元的連結在腦中是三度空間立體的分佈，如果想要觀察不同焦平面的神經細胞，通常需要將樣本上下移動。不過因為電信號的傳遞約在毫秒等級，如果移動的速度不夠快，就無法即時觀察到神經上的動態信號傳遞。另一個傳統(螢光)顯微鏡之所以不容易觀察深組織的重要原因，就是因為沒有光學切片能力，所以不同高度的(螢光)影像全部疊在一起，失去軸向(沿光學系統光軸方向)的對比度。

我們使用一個創新的聲波驅動可調透鏡，搭配紅外光雙光子激發螢光顯微技術，來實現可在活體腦中觀察神經連結與信號傳遞的高速體積影像系統。由於雙光子激發在螢光強度上有非線性關係，所以天生就具備光學切片能力，亦即能在厚組織中也只看到這一層，可以大幅提升軸向對比。而紅外光源則可以提升在腦組織中的穿透深度⁽⁷⁾。但是光學切片能力也會造成看不到其他層的神經結構，所以需要搭配高速軸向掃描才能看到整個腦中的神經信號反應。而聲波驅動可調透鏡是一個裝有透明油狀液體的透鏡，周圍包覆一圈壓電材料環。透過外加週期性的電位，驅動壓電材料膨脹收縮，產生聲波。當聲波的頻率與液體共振時，就會產生駐波，亦即內部的液體會有非常快速的密度變化(約百萬赫茲)。由於密度變化就會對應到折射率的變化，因此當光穿過這個聲波驅動可調透鏡時，就會以極高的頻率改變其焦點位置。跟顯微物鏡結合，即可達到軸向上的高速掃描。而在橫向的二維平面則使用速度為千赫茲左右的掃描振鏡，實現出可以在腦組織中擷取高速體積影像的光學系統⁽⁸⁾，2019年發表在美國光學學會歷史悠久的重要期刊 *Optics Letters* 上，並獲編輯選為必讀文章。

圖 1(a) 左圖是用一般的雙光子顯微鏡，觀察果蠅腦中表現綠螢光蛋白的結構。因為其光學切片能力，此圖只能看到位在焦平面的神經，看不到其他層的結構。而圖 1(a) 右圖則是加上聲波驅動可調透鏡，讓顯微鏡的焦點在軸向上非常快速地移動，所以可以把上下層超過一百微米的立體結構全部一次觀察到。搭配高速的信號擷取系統，就可以把三度空間的腦組織影像重建出來(不同顏色代表不同深度)。最重要的是，圖 1(a) 左圖和右圖所花費的擷取時間是一樣的，都在不到一秒內的時間中完成。我們目前可以做到大約每秒十個體積影像的速度，而且範圍可以包括到果蠅大部分的腦區結構，能夠用來解析腦中神經元鈣離子濃度的變化，還有彼此間的交互連結作用過程。

如果要進一步提升速度到可以觀察毫秒等級的神經電位動態行為，我們可以用光形成類似「緞帶」般的掃描區域，如圖 1(b) 的最左圖所示。其原理是透過掃描振鏡在二維平面上形成任意形狀的掃描線段，例如這裡以一個弧形為例，這樣的掃描時間可以在 1-2 毫秒內完成。當加上聲波驅動可調透鏡時，這個弧形就會變成三度空間上的一段立體「緞帶」，可以觀察在這條任意形狀緞帶上的神經信號反應。圖 1(b) 的中間就是一個具體的例子，這裡看到的是果蠅的記憶中樞以及掌管嗅覺處理的蕈狀體(mushroom body)，其上表現了會對鈣離子濃度變化敏感的綠螢光蛋白 GCaMP6。就像圖 1(a) 一樣，此處的顏色也是代表深度差異。可以發現整個蕈狀體橫跨了將近一百微米的深度，如果使用一般的顯微技術，非常難同時觀察到不同區域的神經動態行為。

透過我們所發展的高速體積「緞帶」顯微技術，我們在蕈狀體上選了一塊線段，如圖 1(b) 中間圖的白線所示。這個線段的長度大約 150 微米，包括了蕈狀體中多個不同分區。在加入聲波驅動可調透鏡後，整個緞帶上不同深度的信號都可以被擷取與分析，而且取像的

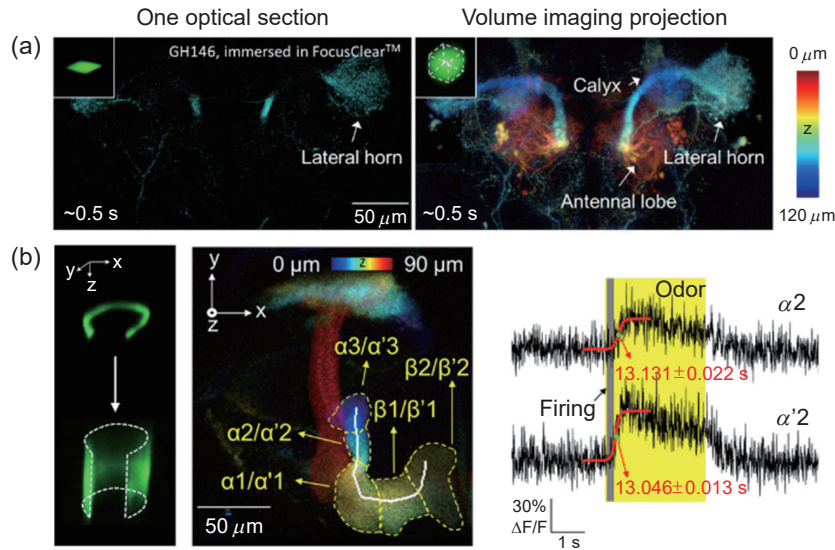


圖 1. 高速體積雙光子影像系統應用在有標定綠螢光蛋白的果蠅腦中。(a) 左圖是一般雙光子顯微鏡取得的光學切片，右圖則是結合聲波驅動可調透鏡的高速體積影像。(b) 則是高速體積「緞帶」顯微技術，透過在二維平面上選取任意線段，加上聲波驅動可調透鏡擴充到三維，可以用超高時間解析度觀察到三度空間中不同位置的神經信號表現差異。(8)

速度可以高達每秒 250 張，亦即約 4 毫秒就能取一張。圖 1(b) 的右圖就顯示當活著的果蠅受到嗅覺刺激時，我們分析其中 $\alpha 2$ 跟 $\alpha'2$ 這兩個分區的鈣離子信號差異，發現這相鄰的兩區，其鈣離子濃度變化的時間有大約 100 毫秒左右的時間差，這是用傳統影像技術非常難取得的資訊。我們未來將會進一步結合跟電位敏感的螢光蛋白，來實現超高速的活體神經體積電位影像觀測。

三、結合精準光學刺激與光遺傳蛋白，實現高速體積全光學生理操控與觀察

前文介紹中有提到使用微電極可以量測腦細胞中的電位，事實上這些微電極也可以用來刺激神經細胞產生反應，這種用電來觀察與刺激神經的做法，是稱之為電生理學的一門學問，早在神經科學剛萌芽的時期就已經常常被使用。不過要研究活體全腦反應的話，微電極的侵入性是一個很大的阻礙。如果能夠用光來刺激特定的神經細胞，使其產生電位信號反應，這樣就有機會可以進行非侵入的研究，而且可以一次影響或觀察很多個別細胞。其實我們眼睛中的錐狀細胞以及桿狀細胞，本身就是一種能夠吸收光線，轉換成電信號的神經細胞。不過除了眼睛之外，其他區域的神經細胞原本應該是不會受光刺激的。在 21 世紀初期，科學家們發展出所謂的光遺傳技術，也就是透過基因調控，將能夠感光的蛋白質分子嵌入細胞膜上，讓特定的神經細胞變成對光敏感，照光後產生電位信號(用光激發)，或是在產生電位與離子信號變化時，螢光蛋白的亮度有所改變(用光觀察)。兩者結合起來，稱為全光學生理學，是一門正在快速發展的新學科，讓我們有辦法用光來操控與觀察神經信號表現。在我們最近的研究中，以第一節中談到的高速體積影像系統為基礎，搭配全光學生理學中的光遺傳感光蛋白與鈣離子螢光蛋白，來進一步了解神經間的功能性連結與編碼方式。具體而

言，我們能夠精準地刺激上游神經迴路，並且以高速體積成像的方式，觀察這樣的刺激造成腦中哪些下游神經區域的離子濃度改變⁽⁹⁾。

圖 2 是相關研究的初步成果，我們是以果蠅的視覺神經迴路 (anterior visual pathway, AVP) 為對象，如圖 2(a) 所示。在果蠅的複眼視覺系統中，一隻複眼大約有 800 個感光神經細胞，這 800 個細胞的信號在大腦的 AVP 中會整合到一個稱為前視結節 (anterior optical tubercle, AOTu) 的腦區，其中分為約 12 個小區。然後神經信號會傳到其下游的結構，稱為 BU (bulb)，又散開變成 70–80 顆的小球狀樹突 (microglomeruli)。為什麼神經的信號要這樣收斂之後再散開，以及其中到底如何連結跟編碼，是一個未解的謎團。

在圖 2 中，我們將上游來的神經細胞 (稱為 MT 細胞，由圖 2(a) 中的 MED (medulla) 連結到 AOTU) 標示為紫色，這些 MT 細胞中有表現能被紅光激發的光敏蛋白 CsChrimson，在圖 2(b) 中可以看到 MT 細胞的樹突聚集在 AOTUil (intermediate lateral AOTU) 區域，並且形成三團較小的次結構。另外將下游的神經細胞 (稱為 TB 細胞，亦即 AOTU 連結到 BU) 標示為綠色，代表其中有表現能反映鈣離子濃度的螢光蛋白 GCaMP6。在圖 2(b) 的右側可以看出 TB 細胞向外傳播的樹突小球一起形成了 BU 區域。這個 BU 區域大約橫跨 40 微米的深度，而且本身結構又相當緻密，所以也是傳統顯微影像很不容易觀察的區域，更遑論其中的動態連結行為。

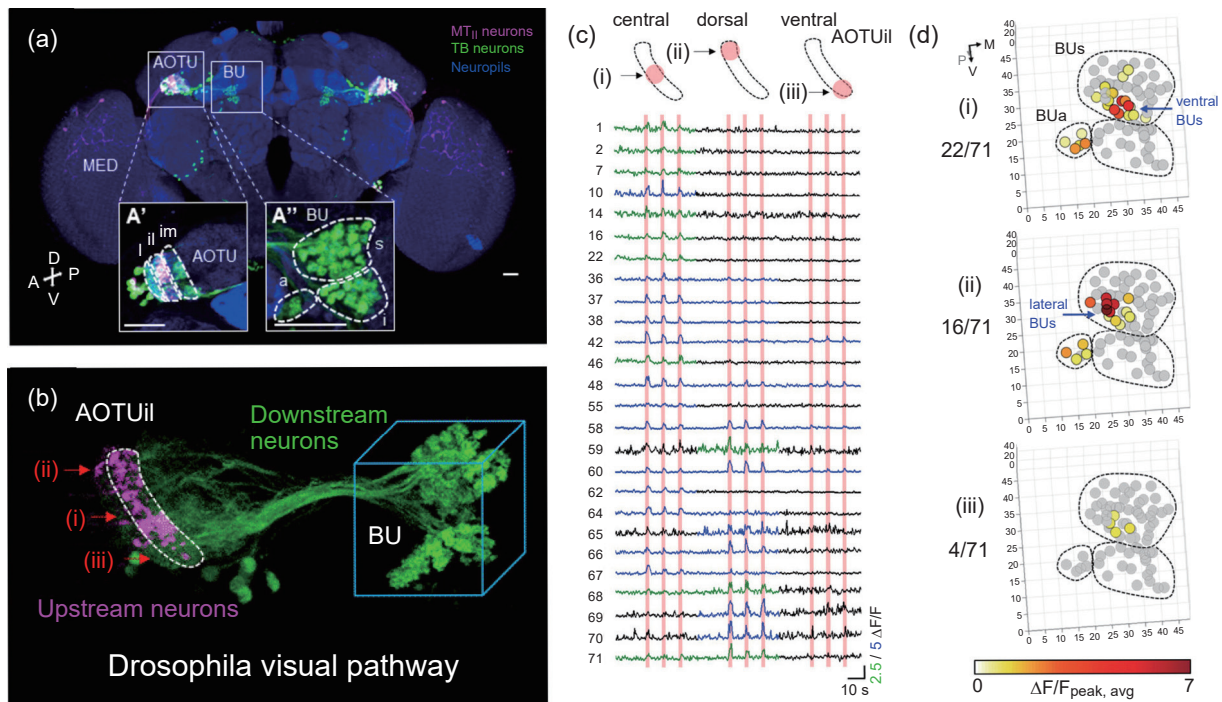


圖 2. 活體腦中的高速體積全光學生理研究系統，用來觀察果蠅腦的視覺迴路 AVP。(a) 果蠅腦中的視覺迴路結構影像，紫色代表 MB 神經細胞分佈，綠色則是 TB 神經分佈。A' 是 AOTU 區域，其中包含一個 AOTUil 的次區域，A'' 則呈現 BU 的眾多小球結構。比例尺均為 20 微米。(b) 左方是上游的 AOTUil，區分為 i、ii、iii 三個小區，可分別被光激發；右方則是下游神經的 BU 小球區，透過高解析度影像，可清楚觀察到小球緊密排列的三度空間結構。(c) 分別刺激三小區，各刺激連續三次，對應到有產生反應的 BU 小球編號。(d) 則是這些有反應小球的空間位置分布。

在圖 2(c) 中呈現我們透過自己架設的紅光雷射刺激系統，精準地刺激 AOTUil 上的區域 (i)、(ii)、(iii)，以及對應於這些刺激在 BU 小球上的神經信號反應。每一組刺激都至少重複三次，以驗證其真實性。將這些 BU 小球反應在空間座標上描繪出來，就是如圖 2(c) 的樣子，可以看出 BU 小球與這三個 AOTU 區域之間的上下游功能性連結關係。此研究在去年發表於 Cell 出版社的新期刊 iScience 上，獲得四位審稿者一致認同，順利刊登。未來預計透過累積更多樣本數，能更瞭解視神經迴路中的編碼模式，揭開大腦視覺設計的原理。這些編碼原理或許將來還能夠應用在電腦視覺方面，提升電腦設計的效率。

四、全果蠅腦可達 20 奈米超高空間解析度

一般的光學顯微技術，受限於繞射極限，僅能達到數百奈米的空間解析度。這個解析度用來觀察神經細胞本體相當足夠，但是神經細胞上有許多約百奈米大小的纖維以及突觸結構，其中還有更多僅有數十奈米的囊泡，這些都在信號傳遞上扮演關鍵的角色，不過一般光學技術無法清楚解析。21 世紀的其中一項重大光學突破就是將空間解析度極限大幅下修一個數量級以上，達到數十奈米，甚至數奈米，對於神經科學的研究非常有幫助。然而目前絕大部分的超解析顯微技術都只能用在細胞層級的研究，而無法觀察組織內部的結構。主要的原因在於生物組織是由很多折射率不同的細微結構混合組成，例如細胞內部的細胞核與細胞質折射率就不同，而不同種類的細胞，例如脂肪細胞和神經膠質細胞的折射率也差異很大。因此光穿過生物組織中常會產生很大的散射以及像差，大幅降低解析度。

我們最近發展出「深組織超解析光學技術」(Confocal lOcalization deep-imaging with Optical cLearning, COOL)⁽¹⁰⁾，結合光學組織澄清技術來降低生物組織的散射與像差；高速共軛焦掃描顯微鏡來達到光學切片能力以分辨組織中不同高度層次的結構；螢光蛋白標定以及定位顯微技術來實現 20 奈米的空間解析度。因為篇幅的關係，這裡就不一一介紹個別技術其中的細節，有興趣的讀者可以參考上述這篇發表在 iScience 的論文⁽¹⁰⁾。若對更多技術細節與相關比較有興趣，歡迎參考我們受英國 Institute of Physics 編輯之邀，2021 年發表在歷史悠久的應用物理期刊 Journal of Physics D 上的回顧論文。

圖 3 呈現 COOL 用在果蠅腦中觀察神經結構的具體成果，圖 3(a) 是果蠅腦中的兩個神經元，其樹突纖維彼此纏繞糾結在一起，用共軛焦顯微鏡觀察的結果放在小圖中，只能看出有兩條較粗的神經纖維進入球狀結構，但是在球狀結構中完全無法分辨出個別神經伸出的樹突纖維。用 COOL 才能夠大幅提高解析度，將這團無法分辨的樹突分離開來，看出彼此纏繞的結構，可以追蹤神經信號傳遞的可能路徑。圖 3(b) 則是空間解析度的分析，其中黑線代表 COOL 的解析度，亦即定位顯微技術的不準確度，可以達到 20 奈米。紅線與藍線分別代表用共軛焦顯微鏡與 COOL 觀察同一條神經纖維，可以看出前者的解析度，約在 300 奈米左右，而後者因為具有提高了十倍以上解析度，因此可以正確判斷這條神經纖維的直徑其實只有 80 奈米。這也就是為什麼在圖 3(a) 的小圖中，這些神經纖維完全無法被共軛焦顯微鏡解析出來。這裡的重點是，圖 3(b) 中 20 奈米的空間解析度是在果蠅腦的最底部量到的，也就是說我們現在已經有能力可以在整個果蠅腦中的任何區域達到這麼高的空間解析度，描繪出更高解析度的果蠅大腦神經傳遞圖譜。

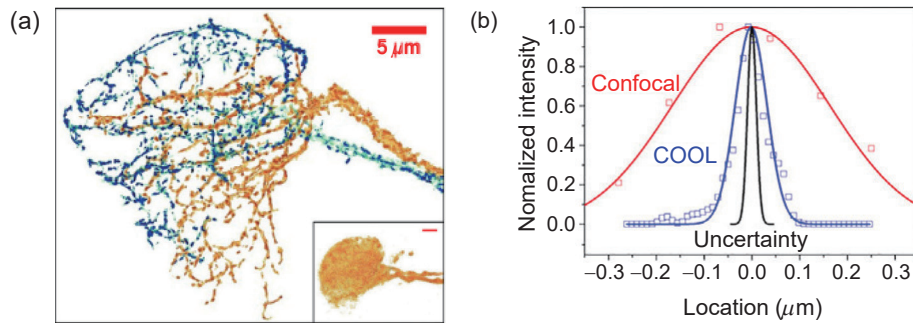


圖 3. (a) 用 COOL 觀察兩團彼此糾結的神經纖維分布，附圖是以共軛焦顯微鏡觀察的結果。(b) 解析度分析，COOL 可以達到 20 奈米的空間解析度。

五、結語

總結來說，要發展一個任何影像系統，都必須考慮對比、空間解析度、時間解析度、和影像深度等四個參數。我們在這裡呈現了幾個適合用在腦科學研究上的技術發展，結合了創新的物理與生物概念，例如用光遺傳學來提供對鈣離子或電位敏感的螢光蛋白，或是能夠被光激發的光敏蛋白等，可說是一種新的對比；用定位顯微技術和光學切片能力來提高三度空間的解析度；用聲波共振來提高三維體積影像的時間解析度；還有用紅外光雷射與多光子激發螢光來提高穿透深度等。事實上，這些創新的影像技術不只可以應用在腦神經科學的觀察上，例如高速體積影像也可以應用在快速運動的流體中，觀察血液中的細胞等。

我們未來也會持續發展創新的光學影像系統，在腦科學研究上的目標是實現「功能性全腦連結體 (connectome)」觀察。亦即能夠以具備高時間解析度 (毫秒)、高空間解析度 (次微米到奈米)、以及高穿透深度 (釐米) 的高規格影像技術，觀察果蠅活體全腦中每一個神經細胞在學習與記憶時的動態連結，以解開大腦運作的奧秘。

誌謝

此研究獲得科技部「以疾病為導向之腦與心智科學專案研究計畫」(106-108) 及「台灣腦科技發展及國際躍升計畫」(108-110) 的計畫資助，朱士維也獲得科技部傑出年輕學者計畫補助，還有傑出人才基金會的年輕學者創新獎，在此一併致謝。此外，這些跨領域研究得以實現，要特別感謝受教育部和科技部共同支持的清華大學腦科學研究特色中心，中心主任江安世院士還有朱麗安博士 (目前在清大生環系任教) 的大力協助。最後，最需要感謝的是一起合作完成這些研究的學生們，包括徐國仁博士 (目前在荷蘭 ASML 任職)，黃喬碩士 (目前在 Arizona 攻讀博士)，林涵源碩士 (目前在台中擔任高中教師) 等夥伴，沒有你們的認真投入，就不會有這些出色的研究成果。

參考文獻

1. Miller G, *Science*, **309** (5731),79 (2005).
2. Zheng ZH, et al., *Cell*, **174** (3), 730 (2018).
3. Alivisatos AP, et al., *Neuron*, **74** (6), 970 (2012).

4. Balzarotti F, et al., *Science*, **355** (6325), 606 (2017).
5. Chu LA, et al., *Nature Communications*, **10** (1), 4762 (2019)
6. Helmchen F & Denk W, *Nat. Methods*, **2** (12), 932 (2005).
7. Hsu K-J, Lin Y-Y, Chiang A-S, and Chu S-W, *Biomed. Opt. Exp.*, **10** (4), 1637 (2019).
8. Hsu K-J, et al., *Opt. Lett.*, **44** (13), 3190 (2019).
9. Huang C, et al., *iScience*, **22**, 133 (2019).
10. Lin H-Y, et al., *iScience*, **14**,164 (2019).

作者簡介

朱士維先生為國立台灣大學光電工程學研究所博士，現為國立台灣大學物理學系教授。長期致力於教學與輔導學生，曾獲得台大優良教師獎，傑出教師獎，與優良導師獎。目前亦擔任台大教學發展中心副主任，與台大創新設計學院教學組組長，希望能將自己在教學上獲得的感動，與其他師生分享。在研究上著力於突破光學顯微鏡的極限，應用在跨領域生命科學研究上，擔任台大分子影像中心副主任，和清華大學腦科學中心創新科學技術組組長。曾獲得潘文淵基金會考察研究獎，傑出人才基金會年輕學者創新獎，以及科技部未來科技獎、優秀年輕學者計畫獎助等。最開心的是歷年指導學生累計已獲得國內外獎項超過五十項，與有榮焉！

Shi-Wei Chu received his Ph.D. in Graduate Institute of Photonics and Optoelectronics from National Taiwan University. He is currently a professor in Department of Physics at National Taiwan University.